

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :  C07K 16/00	A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/02565  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 21. Januar 1999 (21.01.99)
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/04090</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 2. Juli 1998 (02.07.98)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 197 29 591.6 10. Juli 1997 (10.07.97) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): THERASORB MEDIZINISCHE SYSTEME GMBH [DE/DE]; Edisonstrasse 6, D-85716 Unterschleißheim (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KOLL, Robert [DE/DE]; Heckenkirschenweg 4, D-85551 Kirchheim (DE). RICHTER, W.-O. [DE/DE]; Blumenstrasse 6, D-86949 Windach-Schöffelding (DE). BIEBER, Franz [DE/CA]; 6 Queen Street, Guysborough, Nova Scotia B0H 1N0 (CA). TSCHÖPE, W. [DE/DE]; Therasorb GmbH, Edisonstrasse 6, D-85716 Unterschleißheim (DE).</p> <p>(74) Anwalt: GRÜNECKER, KINKELDEY, STOCKMAIR &amp; SCHWANHÄUSSER; Maximilianstrasse 58, D-80538 München (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p><b>Veröffentlicht</b> <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>	
(54) Title: AGENT FOR THE TREATMENT AND/OR PROPHYLAXIS OF MICROCIRCULATION DISORDERS		
(54) Bezeichnung: MITTEL ZUR BEHANDLUNG UND/ODER PROPHYLAXE VON MIKROZIRKULATIONSSTÖRUNGEN		
(57) Abstract		
<p>The present invention concerns the use of a ligand for fibrinogen and/or fibrin in order to produce an agent for the treatment and/or prophylaxis of microcirculation disorders and/or for influencing the rheology of a mammal.</p>		
(57) Zusammenfassung		
<p>Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung eines Liganden für Fibrinogen und/oder Fibrin zur Herstellung eines Mittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Mikrozirkulationsstörungen und/oder zur Beeinflussung der Rheologie eines Säugers.</p>		

### **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

## **Mittel zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Mikrozirkulationsstörungen**

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung eines Liganden für Fibrinogen und/oder Fibrin zur Herstellung eines Mittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Mikrozirkulationsstörungen und/oder zur Beeinflussung der Rheologie eines Säugers.

Die Erfindung betrifft ferner eine Adsorbersäule, die eine Matrix und einen Liganden enthält, wobei der Ligand eine Spezifität für Fibrin und/oder Fibrinogen besitzt. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Beeinflussung der Mikrozirkulation eines Säugers und eine pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend einen Liganden für Fibrinogen und/oder Fibrin.

Es ist seit langem bekannt, daß bestimmte Störungen und Krankheitszustände mit einem Überschuß einer bestimmten Substanz im Blut eines Patienten assoziiert sind. Zum Beispiel sind bei der Hypercholesterolämie die Spiegel des Low Density Lipoproteins (LDL) im Patientenblut aufgrund eines genetischen Defekts im LDL-Rezeptor deutlich erhöht. Die Erhöhung des LDLs kann zur Entwicklung von Arteriosklerose in den Koronararterien eines Patienten führen, was unter Umständen einen frühen Herzinfarkt oder den Tod verursachen kann.

Auch bestimmte Autoimmun- und andere Erkrankungen sind mit erhöhten Spiegeln von Substanzen im Patientenblut verbunden. Es wird zum Beispiel angenommen, daß die Symptome von Autoimmunerkrankungen, wie zum Beispiel systemischer Lupus erythematosus (SLE), rheumatoide Arthritis, idiopathische Thrombozytopenie, Myasthenia gravis und Vaskulitis durch Autoantikörper und zirkulierende Immunkomplexe im Patientenblut ausgelöst werden, die gegen die eigenen Antigene des Patienten gerichtet sind. Es wurde daher angenommen, daß die Entfernung eines großen Teils des Immunglobulins von Patienten, einschließlich Autoantikörpern und zirkulierenden Immunkomplexen (CIC), zur Verbesserung der Symptomatik führen könnte und unter Umständen sogar zu einer Heilung.

Auch für Interferon wurde diskutiert, daß es eine pathogene Substanz im Blut von Patienten sein könnte, die an Autoimmunerkrankungen, einer Allergie oder einer Abstoßung von transplantiertem Gewebe leiden. Es wurde vorgeschlagen, daß Anti-

Interferon-Immunglobuline, die an einen festen Träger gekuppelt sind, die Entfernung von Interferon aus Blut solcher Patienten bewirken könnten.

Es ist daher möglich, bestimmte Autoimmunerkrankungen zu behandeln, indem ein großer Teil der Immunglobuline des Patienten unter Verwendung einer Säule, die mit gegen menschliches Immunglobulin gerichteten Antikörpern beladen ist. Die Verwendung solcher Säulen bei der Behandlung von Autoimmunerkrankungen wurde zum Beispiel in den folgenden Druckschriften offenbart: Schaumann D. et al., Nieren und Hochdruckkrankheiten Nr. 9, Sept. 1994; Knöbl P. et al., Thrombosis and Haemostasis, 74 (4), 1035-1038 (1995); Tribl B. et al., Ann. Hematology 71 (1995); Richter W.-O. et al., ASAIO Journal Vol. 41, No. 1, Suppl. P. 2 (1995); Schlee H. et al., Wiener Klinische Wochenschrift 108, Suppl. 1, 27 (1996); Dörffel et al., Zeitschrift für Kardiologie, Band 85, Suppl. 2, Abstr. 667 (1996).

Bei einer Transplantation ergibt sich ebenfalls ein Bedarf, bestimmte Substanzen aus dem Blut des Patienten zu entfernen. Im allgemeinen muß das transplantierte Organ immunologisch mit dem Empfänger übereinstimmen, um eine hyperakute Abstoßung des Donororgans zu verhindern. Wenn ein Donororgan transplantiert wird, gegen das der Empfänger Antikörper gebildet hat oder bildet, tritt eine Abstoßung des Donororgans kurz nach der Transplantation auf. Eine solche Reaktion tritt auf, wenn das eigene Immunsystem des Empfängers das transplantierte Organ innerhalb von Minuten bis typischerweise innerhalb von 48 Stunden nach der Transplantation attackiert und zerstört. Selbst wenn der Empfänger eine immunsuppressive Therapie erhält, kann diese schnelle Abstoßung nicht verhindert werden.

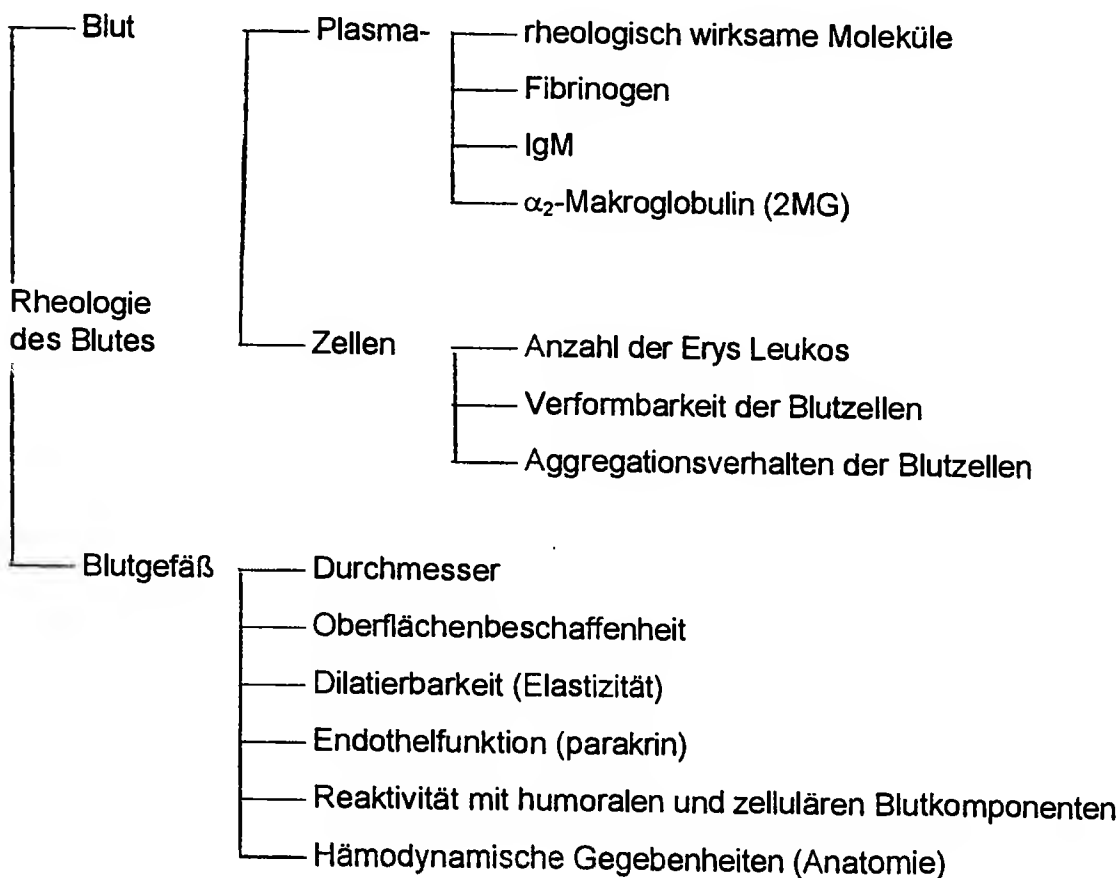
Es wurden daher Verfahren entwickelt, mit denen Anti-A/Anti-B-Antikörper aus dem Blut des Empfängers entfernt werden, wobei eine extrakorporale Perfusion des Plasmas des Empfängers über synthetische A/B-Blutgruppenantigene verwendet wurde, die kovalent an Silica gebunden waren.

Weiterhin gibt es eine ganze Reihe von Erkrankungen, denen eine Verschlechterung der Mikrozirkulation gemeinsam ist. Diese Veränderung kann primär die auslösende Ursache der Krankheit sein oder sie kann auf die Erkrankung folgen. In jedem Fall kann sie wesentlich zum klinischen Bild beitragen.

Die Ursache der verminderten Mikrozirkulation kann vom Gefäßsystem ausgehen, indem zum Beispiel entzündliche oder metabolische Veränderungen den Gefäßdurchmesser der Arteriolen, Kapillaren und Venolen reduzieren und damit die Mikrozirkulation beeinträchtigen. Ebenso kann die Blutzusammensetzung die Mikrozirkulation beeinflussen. Entscheidend sind hierbei die Viskosität des Plasmas und die Verformbarkeit der Erythrozyten. Auch bei Störungen der Makrozirkulation spielt die Blutzusammensetzung eine Rolle, entscheidend sind die Vollblutviskosität und die Erythrozytenaggregation.

Die Plasmaviskosität hängt von der Konzentration verschiedener Makromoleküle ab. Zum Beispiel beeinflussen Fibrinogen, IgM,  $\alpha_2$ -Makroglobulin, aber gering auch Chylomikronen, VLDL und LDL die Plasmaviskosität konzentrationsabhängig.

Die nachfolgende Übersicht zeigt die verschiedenen komplexen Bestandteile, die die Rheologie des Blutes und damit die Mikrozirkulation beeinflussen:



Abgesehen von Herzinfarkt, koronarem Herztod oder Schlaganfall existieren eine Reihe anderer Erkrankungen, die mit Mikrozirkulationsstörungen einhergehen. Dazu gehört zum Beispiel der Typ-II-Diabetes. Die Patientengruppe der Diabetiker ist nicht zuletzt wegen der hohen Inzidenz und Prävalenz von Diabetes von erheblicher Bedeutung. Derzeit gibt es in der BRD etwa 4 Millionen Diabetiker. Etwa 15 bis 25 % haben oder entwickeln im Verlauf der Erkrankung Komplikationen, welche auf Mikrozirkulationsstörungen zurückzuführen sind.

Hierzu gehören zum Beispiel der diabetische Fuß, die Retinopathie, Polyneuropathien und beeinträchtigte Nierenfunktion. Die Bedeutung zum Beispiel des diabetischen Fußes läßt sich bereits aus der Tatsache ablesen, daß es in den USA Kliniken gibt, die sich ausschließlich auf die Therapie des diabetischen Fußes spezialisiert haben.

Weitere Krankheiten, die mit Mikrozirkulationsstörungen einhergehen, sind insbesondere die arterielle Verschußkrankheit, Hörsturz und Sepsis. Die folgende Auflistung zeigt Krankheiten, die mit Mikrozirkulationsstörungen einhergehen können:

ZNS	Schlaganfall
	TIA (Transient Ischemic Attack)
	PRIND (Prolonged Reversible Ischemic Neurological Deficit)
	Chronische vaskuläre Erkrankungen des ZNS
	Chronische intracranielle Durchblutungsstörungen
	Chronische extracranielle Durchblutungsstörungen
	Zerebrovaskuläre Durchblutungsstörungen
	Demenz
	Alzheimer Krankheit
Auge	Schwerer zentraler Schwindel
	Chronische Durchblutungsstörung
	Akuter Gefäßverschuß
Ohr	Hörsturz
	Innenohr bedingter Schwindel

## Morbus Menière

Lunge	Primäre Pulmonale Hypertonie Venoocclusive Erkrankungen der Lunge Thrombotische primäre pulmonale Hypertonie Thromboembolische Erkrankungen der großen Gefäße
Herz	Transplantationsvaskulopathien Akuter Myokardinfarkt Instabile Angina pectoris Small vessel disease des Herzens Nicht operable schwere koronare Herzkrankheit Kardiomyopathien
Abdomen	Angina abdominalis
Nieren	Vaskulopathien der Nieren Glomerulonephritiden Chronische Niereninsuffizienz
Periphere arterielle Verschlußkrankheiten	
Akute Gefäßverschlüsse	
Vaskulitiden	
Septischer Schock	
Disseminierte intravaskuläre Coagulation (DIC) anderer Genese, z.B. bei Tumorerkrankungen	
Diabetes Typ I + II	
Diabetische Retinopathie	
Diabetische Neuropathie	
Diabetische Nephropathie	

Die Behandlungsmöglichkeiten für die oben genannten Krankheiten, insbesondere für die dabei beteiligten Mikrozirkulationsstörungen, sind bis jetzt beschränkt.

Beispielsweise wurde die diabetische Gangrän bislang rein symptomatisch behandelt (Bettruhe, gute Blutzuckereinstellung, supportive Therapie). Venöse Thromboembolien werden mit Heparin oder Fibrinolysetherapie behandelt. Beim Schlaganfall kann z.B. Aspirin eingesetzt werden, das über die Hemmung der Aggregation von Blutplättchen wirkt. Der Schock wird beispielsweise mit adrenergen Mitteln, z.B. Epinephrin behandelt. Allen diesen Mitteln ist es jedoch gemeinsam, daß sie weder geeignet sind zu einer wirklich effektiven Vorbeugung noch daß sie zufriedenstellende Ergebnisse bei der Behandlung zeigen.

Es war daher eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine wirksame Möglichkeit zu schaffen, mit der Mikrozirkulationsstörungen und die Rheologie des Blutes behandelt und beeinflußt werden können. Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Adsorbersäule anzugeben, die für eine Beeinflussung der Mikrozirkulation eines Säugers verwendet werden kann. Weiterhin ist es eine Aufgabe gemäß der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Beeinflussung der Mikrozirkulation eines Säugers anzugeben. Schließlich ist es eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine pharmazeutische Zusammensetzung anzugeben, die geeignet ist zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Mikrozirkulationsstörungen.

Diese Aufgaben werden durch die in den unabhängigen Ansprüchen genannten Gegenstände gelöst. Vorteilhafte Weiterbildungen sind in den Unteransprüchen angegeben.

Gemäß dem Anspruch 1 der vorliegenden Erfindung wird ein Ligand für Fibrinogen und/oder Fibrin zur Herstellung eines Mittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Mikrozirkulationsstörungen und/oder zur Beeinflussung der Rheologie eines Säugers verwendet.

Ligand bedeutet in diesem Zusammenhang eine Substanz, die spezifisch an Fibrin und/oder Fibrinogen bindet, vorzugsweise ist die Bindung reversibel.



Vorzugsweise handelt es sich bei dem Liganden um ein Peptid, wobei dieses wiederum vorzugsweise 3 bis 10 Aminosäuren aufweist. Besonders bevorzugt enthält das Peptid die folgende Aminosäuresequenz:

Gly-Pro-Arg-Pro-X,

wobei X eine beliebige Aminosäure wie z.B. Lysin oder poly-Lysin oder ein Spacer sein kann.

Als Spacer kommen beispielsweise  $\epsilon$ -Aminocapronsäure oder 6-C-Moleküle in Betracht.

Als besonders geeignet hat sich die folgende Aminosäuresequenz für das Peptid erwiesen:

Gly-Pro-Arg-Pro-Lys.

Weitere geeignete Sequenzen sind:

Gly-Pro-Arg-X

Gly-Pro-Arg-Ser-NH<sub>2</sub>

Gly-Pro-Arg-Val-NH<sub>2</sub>

Arg-Gly-Asp-NH<sub>2</sub>

Glu-His-Ile-Pro-Ala-NH<sub>2</sub>

Gly-Pro-Arg-Pro-Glu-Arg-His-Glu-Ser-NH<sub>2</sub>

In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung kann der Ligand ein Antikörper sein. Er kann ausgewählt werden aus polyklonalen und monoklonalen Anti-Fibrinogen-Antikörpern und Anti-Fibrin-Antikörpern.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist der Säuger ein Mensch.

Weiterhin kann der Ligand in dem Mittel an eine feste Matrix gebunden sein, wobei die Matrix aus Glas, Kohlenhydrate, Polymethacrylate und Polyamiden ausgewählt sein kann.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist die Matrix Sepharose.

Die Matrix kann aus Kügelchen, Fasern und/oder eine Membran bestehen.

Die Krankheiten, die mit Mikrozirkulationsstörungen einhergehen, können zum Beispiel Diabetes, Rhetinopathie, Polyneuropathie, Apoplex, Hörsturz, Sepsis, arterielle Verschußkrankheiten und/oder eine beeinträchtigte Nierenfunktion sein.

Weiterhin ist die vorliegende Erfindung auf eine Adsorbersäule gerichtet, die eine Matrix und einen Liganden enthält, wobei der Ligand eine Spezifität für Fibrin und/oder Fibrinogen besitzt. Vorzugsweise ist der Ligand das Peptid mit der Aminosäuresequenz

Gly-Pro-Arg-Pro-X,

wobei X jede beliebige Aminosäure oder ein Spacer sein kann, und besonders bevorzugt ein Peptid mit der Aminosäuresequenz

Gly-Pro-Arg-Pro-Lys.

Die Matrix in der Adsorbersäule ist vorzugsweise Sepharose. Die Herstellung der Adsorbersäule kann beispielsweise gemäß WO 95/31727 erfolgen.

Weiterhin ist die vorliegenden Erfindung auf ein Verfahren zur Beeinflussung der Mikrozirkulation eines Säugers gerichtet, wobei in vitro Blut oder Plasma des Säugers in die oben beschriebene Säule geführt wird. Als bevorzugtes Verfahren wird ein Aphereseverfahren durchgeführt, bei dem in einem Kreislauf dem Patienten Blut entnommen, dieses in Blutzellen und Plasma aufgetrennt und über die Adsorbersäule geleitet und anschließend dem Patienten wieder zurückgeführt wird.

Schließlich ist die vorliegenden Erfindung auf eine pharmazeutische Zusammensetzung gerichtet, die einen Liganden für Fibrinogen und/oder Fibrin enthält. Durch die vorliegende Erfindung wird es möglich, Blut eines Patienten mit Mikrozirkulationsstörungen über eine Säule zu führen, die beispielsweise als Matrix Sepharose und als Liganden das oben genannte Peptid enthält und dadurch Fibrinogen und/oder Fibrin aus dem Blut zu entfernen. Das Blut kann anschließend zum Patienten zurückgeleitet werden, woraufhin sich dessen Fibrinogen und/oder Fibringehalt im Blut deutlich verringert. Es wurde gefunden, daß ein verringerter Fibrinogen- und/oder Fibringehalt im Blut direkt mit einer Verringerung von Mikrozirkulationsstörungen und damit einer Verbesserung der jeweiligen Krankheitssymptome einher geht.

Eine hemorheologisch wirksame Absenkung der Gesamtfibrinogenmenge im Blut bedeutet eine deutliche Verbesserung der Situation und trägt erheblich zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Mikrozirkulationsstörungen bei. Dies bedeutet in der Regel einen Zielwert von 50 bis 100 mg/dl des Patientenbluts oder eine zu entfernende Fibrinogenmenge von 12 bis 13,5 g pro Patient im Durchschnitt. Daher sollte ein Absorber im Doppelsäulenprinzip etwa 2,5 bis 3 g Bindungskapazität aufweisen.

Die oben genannten Werte ergeben sich aus durchschnittlichen hohen Fibrinogenkonzentrationen von ca. 500 mg/dl und einem angenommenen Plasmavolumen von 3l, damit errechnet sich eine Gesamtfibrinogenmenge von ca. 15 g.

Gemäß der vorliegenden Erfindung werden eine oder zwei Adsorbersäulen eingesetzt, mit welchen die oben genannte Absenkung erzielt werden kann.

Wegen der zu erwartenden hohen Mengen des zu absorbierenden Fibrinogens wird vorzugsweise das Doppelsäulenprinzip angewendet, um

- die Größe des Absorbers zu limitieren,
- die Kosten des Adsorbermaterials zu senken, und
- dadurch die zu behandelnde Plasmamenge unbegrenzt ist.

Durch den direkt mit dem Patienten verbundenen Kreislauf und der Anwendung des Doppeladsorberprinzips mit abwechselnder Beladung und Regeneration der Adsorber kann die Plasmamenge desorbiert werden, welche zur gewünschten Fibrinogenabsenkung führt. Diese Plasmabeladungsmenge sollte in der Regel nicht mehr als die 1,5- bis 2-fache Plasmamenge des Patienten darstellen.

Vorzugsweise wird eine Adsorbergröße von weniger als 200 ml verwendet.

Als Adsorbermaterial kommen die oben genannten Materialien in Frage, wobei besonders Sepharose und Membranen bevorzugt werden.

An den Liganden ist die Anforderung zu stellen, daß er eine hohe Affinität zu Fibrinogen aufweist und zu einer maximalen unspezifischen Absenkung von 10 bis 20 % pro Sitzung von Gerinnungsfaktoren, IgG, IgA, Albumin, Enzymen und Hormonen führt, wobei eine gleichzeitige Absorption von IgM, Makroglobulin, VLDL und LDL ebenfalls günstig ist. Diese liegt jedoch immer deutlich unter der prozentualen Fibrinogenabsenkung wegen des dadurch zu erwartenden günstigen rheologischen Effektes.

Eine durch Substitutionslösungen bewirkte geringe Hämodilution wirkt sich ebenfalls günstig auf die hämorheologischen Parameter aus.

Das Peptid mit der Aminosäuresequenz

Gly-Pro-Arg-Pro-Lys

weist eine sehr hohe Spezifität für Fibrinogen und/oder Fibrin auf.

Weitere Anforderungen an eine Adsorbersäule sind, daß es sich um ein Material handeln sollte, das einfach sterilisierbar sein sollte.

Im folgenden soll der Gegenstand der vorliegenden Erfindung im Hinblick auf die folgenden Beispiele im einzelnen beschrieben werden.

## BEISPIELE

### Beispiel 1 und 2

Das Pentapeptid Gly-Pro-Arg-Pro-Lys wurde als Trifluorazetat synthetisiert und an Cyanbromid-aktive Sepharose CL-4B gekoppelt. Die Spezifität der gekoppelten Sepharose wurde mittels SDS-Gelelektrophorese getestet. Das in den Säulen retendierende und anschließend eluierte Material und die Fibrinogenstandardpräparation wiesen identische Banden auf.

Mit der Peptid-gekoppelten Sepharose wurden Adsorptionssäulen hergestellt. Pro Säule wurden 3 g Sepharose (Naßgewicht) eingesetzt. Die Säulen wurden zuerst mit PBS und dann mit isotonischer Kochsalzlösung vorgespült und dann mit heparinisiertem Plasma (40 ml) beladen. Nach der Säule wurde das Plasma in Fraktionen von je 3 ml aufgefangen und in diesen Proben die Messung der Konzentration verschiedener Plasmakomponenten und der Plasmaviskosität vorgenommen. Anschließend wurden die Säulen mit Glycin-HCl-Puffer (pH 2,8) beladen und dadurch das gebundene Fibrinogen eluiert. Nach Beladung mit PBS und isotonischer Kochsalzlösung konnten die Säulen erneut beladen werden.

### Messmethoden:

Plasmaviskosität wurde bei 37°C mit einem Contraves 30 low shear Rotationsviskosimeter gemessen.

Fibrinogen und Immunoglobuline wurden mit einem Behring Laser Nephelometer immunnephelometrisch gemessen. Cholesterin und Triglyceride wurden enzymatisch bestimmt (Epos Autoanalyzer, Eppendorf, mit Reagenzien von Boehringer).

### Beispiel 1

Die folgende Tabelle zeigt den Einfluß des Fibrinogenadsorbers auf die Plasmakonzentration von Fibrinogen und Cholesterin sowie den daraus resultierenden Effekt auf die Plasmaviskosität (n=7)

TABELLE 1

Fraktion	Fibrinogen (g/L)	Cholesterin (mmol/L)	Plasmaviskosität (mPas)
Plasma	3,31 ± 0,20	6,40 ± 0,23	1,27 ± 0,02
1	0,94 ± 0,16	6,23 ± 0,17	1,17 ± 0,01
2	1,27 ± 0,17	6,29 ± 0,17	1,17 ± 0,01
3	1,49 ± 0,17	6,31 ± 0,16	1,18 ± 0,01
4	1,60 ± 0,15	6,32 ± 0,19	1,19 ± 0,01
5	1,81 ± 0,17	6,32 ± 0,18	1,20 ± 0,02
6	1,87 ± 0,16	6,29 ± 0,19	1,20 ± 0,02

Die folgende Tabelle zeigt den Einfluß des Fibrinogenadsorbers auf die Plasmakonzentration von Fibrinogen und Triglyzeriden sowie den daraus resultierenden Effekt auf die Plasmaviskosität (n=7).

TABELLE 2

Fraktion	Fibrinogen (g/L)	Cholesterin (mmol/L)	Plasmaviskosität (mPas)
Plasma	4,29 ± 0,79	19,13 ± 7,04	1,42 ± 0,06
1	1,62 ± 0,70	16,28 ± 5,15	1,03 ± 0,05
2	1,90 ± 0,86	17,41 ± 5,86	1,22 ± 0,04
3	2,26 ± 0,92	17,54 ± 5,93	1,32 ± 0,05
4	2,52 ± 0,92	17,83 ± 5,97	1,34 ± 0,05
5	2,69 ± 0,90	18,12 ± 6,01	1,35 ± 0,05
6	2,85 ± 0,92	16,52 ± 5,15	1,33 ± 0,05

In beiden Versuchen korrelierte die Fibrinogenabsenkung hochsignifikant mit der Plasmaviskosität (Paired sample t test).

### Beispiel 2

In gleicher Weise hergestellte Säulen, welche statt des Pentapeptids einen polyklonalen anti-human-Immunglobulin-Antikörper vom Schaf gekoppelt an Sepharose CL-4B aufweisen (spezifische Bindung von humanen IgG- alle 4 Subklassen -, IgM, IgA, Immunkomplexe, Bruchstücke von Immunglobulinen) zeigten ebenfalls einen Einfluß

auf die Plasmaviskosität, der jedoch deutlich geringer war als mit dem Fibrinogenadsorber.

Die folgende Tabelle faßt die Ergebnisse zusammen (n=7).

**TABELLE 3**

Einfluß eines Immunglobulinadsorbers auf die Plasmakonzentration von  
Fibrinogen, Cholesterin, IgG, IgA, IgM  
sowie der daraus resultierende Effekt auf die Plasmaviskosität

Fraktion	Fibrinogen (g/L)	Cholesterin (g/L)	IgG (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)	Plasma- viskosität (mPas)
Plasma	3,21 ± 0,20	6,40 ± 0,23	11,80 ± 0,43	2,96 ± 0,22	1,89 ± 0,25	1,27 ± 0,02
1	3,10 ± 0,20	6,25 ± 0,22	7,72 ± 0,73	2,77 ± 0,30	1,71 ± 0,27	1,21 ± 0,01
2	3,15 ± 0,21	6,30 ± 0,16	9,97 ± 0,57	2,87 ± 0,24	1,75 ± 0,28	1,24 ± 0,01
3	3,13 ± 0,21	6,28 ± 0,18	10,75 ± 0,51	2,88 ± 0,24	1,80 ± 0,29	1,25 ± 0,02
4	3,11 ± 0,20	6,25 ± 0,17	10,99 ± 0,45	2,83 ± 0,22	1,79 ± 0,29	1,24 ± 0,02
5	3,10 ± 0,20	6,30 ± 0,18	11,36 ± 0,45	2,85 ± 0,22	1,81 ± 0,29	1,25 ± 0,02
6	3,10 ± 0,19	6,17 ± 0,21	11,42 ± 0,44	2,86 ± 0,20	1,81 ± 0,30	1,25 ± 0,02

Eine signifikante Veränderung in der Plasmaviskosität wird nur in Fraktion 1 und 2 gesehen und korrespondiert mit den niedrigsten IgG-Werten.

## SEQUENZPROTOKOLL

## (1) ALLGEMEINE ANGABEN:

## (i) ANMELDER:

- (A) NAME: Therasorb Medizinische Systeme GmbH
- (B) STRASSE: Edisonstr.6
- (C) ORT: Unterschleissheim
- (E) LAND: Deutschland
- (F) POSTLEITZAHL: 85716

(ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Mittel zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Mikrozirkulationsstörungen

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 8

## (iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:

- (A) DATENTRÄGER: Floppy disk
- (B) COMPUTER: IBM PC compatible
- (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPA)

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

## (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 5 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

Gly Pro Arg Pro Xaa  
1 5

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2:

## (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 5 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:



Gly Pro Arg Pro Lys  
1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
(A) LÄNGE: 4 Aminosäuren  
(B) ART: Aminosäure  
(C) STRANGFORM:  
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

Gly Pro Arg Xaa  
1

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
(A) LÄNGE: 4 Aminosäuren  
(B) ART: Aminosäure  
(C) STRANGFORM:  
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

- (ix) MERKMAL:  
(A) NAME/SCHLÜSSEL: modifizierte Aminosäure  
(B) LAGE:C-terminal  
(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "die c-terminale  
Aminosäure trägt eine Säureamidgruppe als  
Endgruppe"  
/label=NH2

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

Gly Pro Arg Ser  
1

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
(A) LÄNGE: 4 Aminosäuren  
(B) ART: Aminosäure  
(C) STRANGFORM:  
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: modifizierte Aminosäure
- (B) LAGE:C-terminal
- (D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "die c-terminale Aminosäure trägt eine Säureamidgruppe als Endgruppe"

/label=NH2

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

Gly Pro Arg Val  
1

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
  - (A) LÄNGE: 3 Aminosäuren
  - (B) ART: Aminosäure
  - (C) STRANGFORM:
  - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: modifizierte Aminosäure
- (B) LAGE:C-terminal
- (D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "die c-terminale Aminosäure trägt eine Säureamidgruppe als Endgruppe"

/label=NH2

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

Arg Gly Asp  
1

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 7:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
  - (A) LÄNGE: 5 Aminosäuren
  - (B) ART: Aminosäure
  - (C) STRANGFORM:
  - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: modifizierte Aminosäure
- (B) LAGE:C-terminal
- (D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "die c-terminale Aminosäure trägt eine Säureamidgruppe als Endgruppe"

/label=NH2

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

Glu His Ile Pro Ala  
1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 8:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: modifizierte Aminosäure
- (B) LAGE:C-terminal
- (D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "die c-terminale Aminosäure trägt eine Säureamidgruppe als Endgruppe"

/label=NH2

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

Gly Pro Arg Pro Glu Arg His Glu Ser  
1 5

### Patentansprüche

1. Verwendung eines Liganden für Fibrinogen und/oder Fibrin zur Herstellung eines Mittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Mikrozirkulationsstörungen und/oder zur Beeinflussung der Rheologie eines Säugers.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Ligand ein Peptid ist, vorzugsweise mit 3 bis 10 Aminosäuren.
3. Verwendung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Peptid die folgende Aminosäuresequenz enthält:

Gly-Pro-Arg-Pro-x

wobei x jede beliebige Aminosäure oder ein Spacer sein kann.

4. Verwendung nach Anspruch 3, wobei das Peptid die folgende Aminosäuresequenz aufweist:

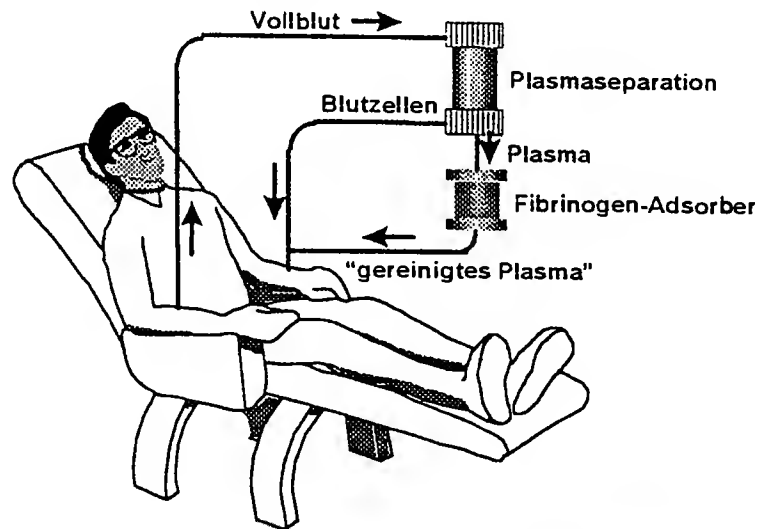
Gly-Pro-Arg-Pro-Lys.

5. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Ligand ein Antikörper ist.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Säuger ein Mensch ist.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß der Ligand ausgewählt wird aus polyklonalen und monoklonalen Anti-Fibrinogen-Antikörpern und Anti-Fibrin-Antikörpern.
8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Ligand in dem Mittel an eine feste Matrix gebunden ist.

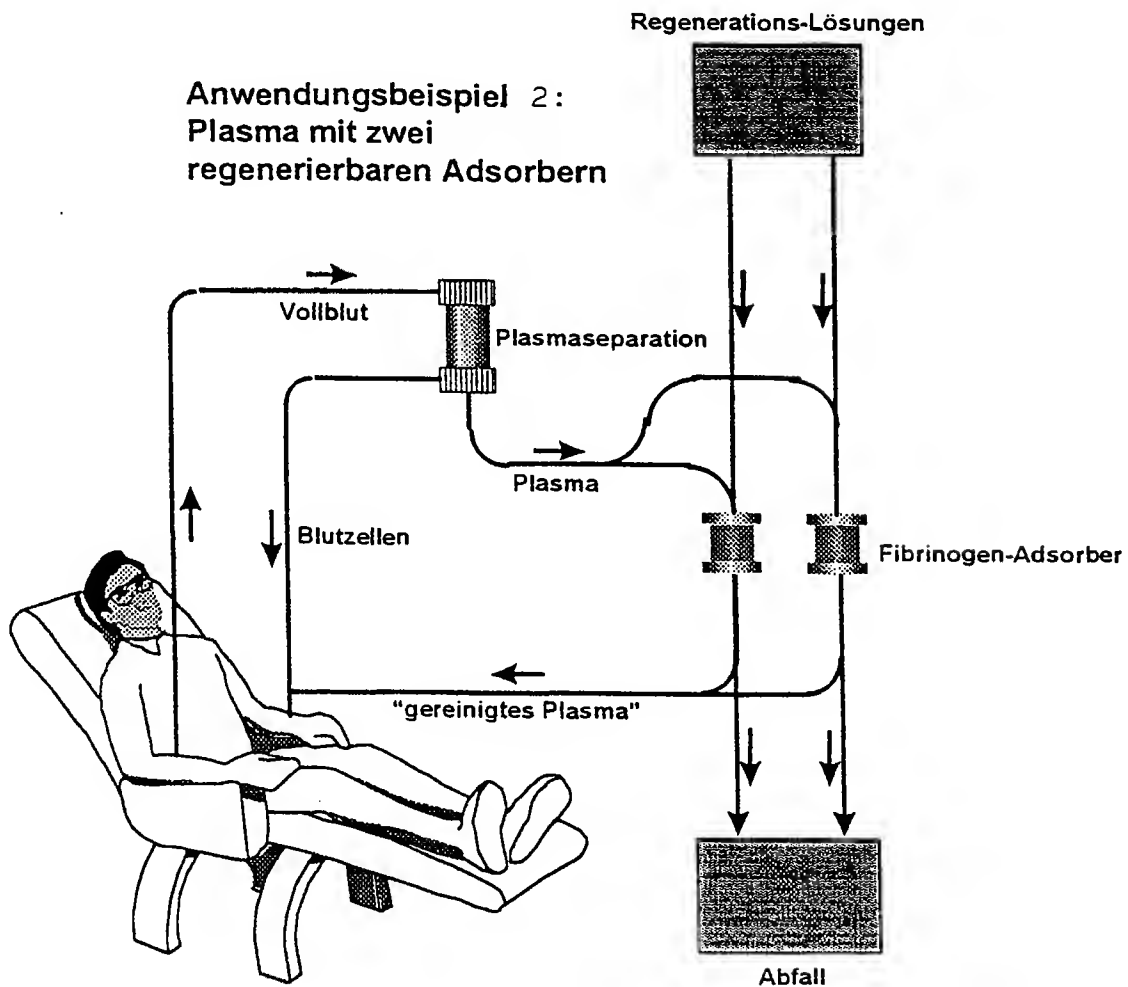
9. Verwendung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Matrix ausgewählt wird aus Glas, Kohlenhydraten, Polymethacrylaten und Polyamiden.
10. Verwendung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Matrix Sepharose ist.
11. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Matrix aus Kügelchen, Fasern und/oder einer Membran besteht.
12. Verwendung nach einem oder mehreren der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Mikrozirkulationsstörung im Zusammenhang mit Diabetes, Retinopathie, Polyneuropathie, Apoplex, Hörsturz, Sepsis, arteriellen Verschlusskrankheiten und/oder beeinträchtigter Nierenfunktion auftritt.
13. Adsorbersäule, enthaltend eine Matrix und einen Liganden, wobei der Ligand eine Spezifität für Fibrin und/oder Fibrinogen besitzt.
14. Adsorbersäule nach Anspruch 13, wobei der Ligand das Peptid wie in einem der Ansprüche 3 oder 4 angegeben ist.
15. Adsorbersäule nach Anspruch 13 oder 14, wobei die Matrix Sepharose ist.
16. Verfahren zur Beeinflussung der Mikrozirkulation eines Säugers, wobei in vitro Blut des Säugers über die Säule gemäß Anspruch 13, 14 oder 15 geführt wird.
17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß es als Aphereseverfahren im Plasma oder Vollblut durchgeführt wird.
18. Pharmazeutische Zusammensetzung enthaltend einen Liganden für Fibrinogen und/oder Fibrin.

1/2

Anwendungsbeispiel 1:  
Plasma mit einem Adsorber

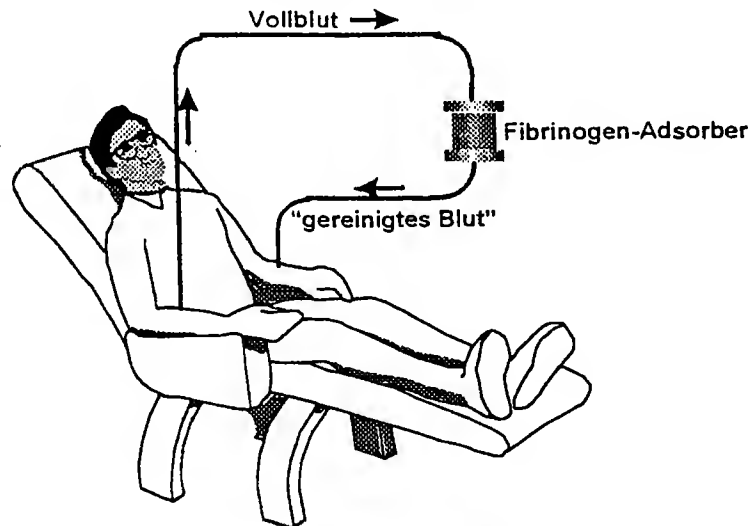


Anwendungsbeispiel 2:  
Plasma mit zwei  
regenerierbaren Adsorbern

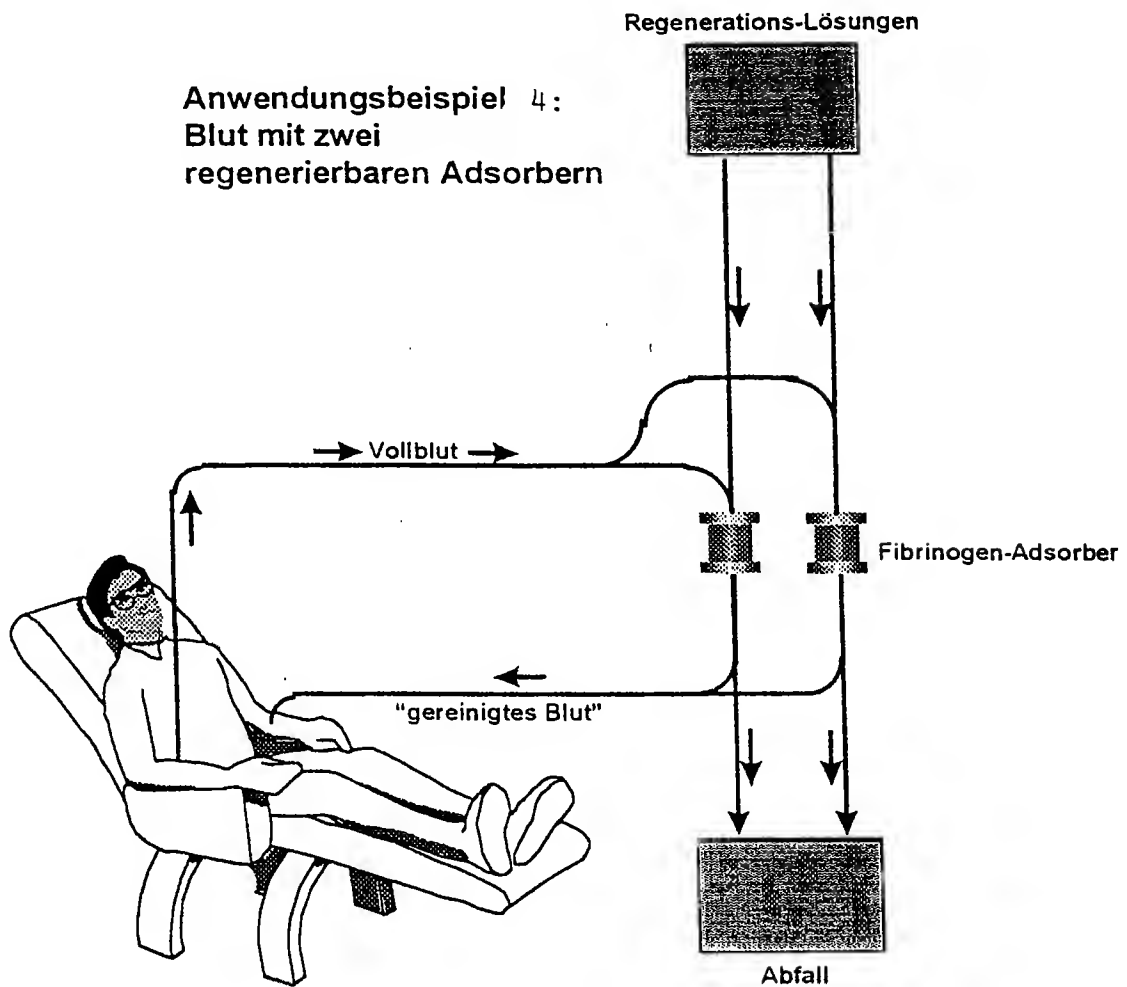


2/2

Anwendungsbeispiel 3:  
Blut mit einem Adsorber



Anwendungsbeispiel 4:  
Blut mit zwei  
regenerierbaren Adsorbern



**PCT**WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :</b> <b>C07K 16/18, 14/745, 14/75, A61L 33/00, A61M 27/00, A61K 39/395</b>	<b>A3</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/02565</b> <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 21. Januar 1999 (21.01.99)</b>
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP98/04090 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 2. Juli 1998 (02.07.98) <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 197 29 591.6      10. Juli 1997 (10.07.97)      DE <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> THERASORB MEDIZINISCHE SYSTEME GMBH [DE/DE]; Edisonstrasse 6, D-85716 Unterschleißheim (DE). <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> KOLL, Robert [DE/DE]; Heckenkirchenweg 4, D-85551 Kirchheim (DE). RICHTER, W.-O. [DE/DE]; Blumenstrasse 6, D-86949 Windach-Schöffelding (DE). BIEBER, Franz [DE/CA]; 6 Queen Street, Guysborough, Nova Scotia B0H 1N0 (CA). TSCHÖPE, W. [DE/DE]; Therasorb GmbH, Edisonstrasse 6, D-85716 Unterschleißheim (DE). <b>(74) Anwalt:</b> GRÜNECKER, KINKELDEY, STOCKMAIR & SCHWANHÄUSSER; Maximilianstrasse 58, D-80538 München (DE).	<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> <b>(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts:</b> 22. April 1999 (22.04.99)	

**(54) Title:** AGENT FOR THE TREATMENT AND/OR PROPHYLAXIS OF MICROCIRCULATION DISORDERS**(54) Bezeichnung:** MITTEL ZUR BEHANDLUNG UND/ODER PROPHYLAXE VON MIKROZIRKULATIONSSTÖRUNGEN**(57) Abstract**

The present invention concerns the use of a ligand for fibrinogen and/or fibrin in order to produce an agent for the treatment and/or prophylaxis of microcirculation disorders and/or for influencing the rheology of a mammal.

**(57) Zusammenfassung**

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung eines Liganden für Fibrinogen und/oder Fibrin zur Herstellung eines Mittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Mikrozirkulationsstörungen und/oder zur Beeinflussung der Rheologie eines Säugers.



### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshjan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauritanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/04090

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07K16/18 C07K14/745 C07K14/75 A61L33/00 A61M27/00  
A61K39/395

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 95 31727 A (BAXTER INT) 23 November 1995 cited in the application see abstract see page 1, line 10 - page 6, line 35 see page 8, line 15 - page 10, line 20 ---	1-4, 6-11, 14-18
Y	EP 0 714 982 A (GRUENENTHAL GMBH) 5 June 1996  see the whole document, in particular SEQ.ID.N.15 ---	1-4,6, 8-11, 14-17
Y	EP 0 396 188 A (TNO) 7 November 1990 see the whole document ---	1,7,18
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 February 1999

Date of mailing of the international search report

19/02/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mateo Rosell, A.M.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/04090

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE WPI  Week 9705  Derwent Publications Ltd., London, GB;  AN 97-048322  XP002092369  &amp; JP 08 301900 A (SHIMA KENKYUSHO KK)  , 19 November 1996  see abstract</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1,7,18
A	<p>US 5 571 708 A (YANG WEN-PIN ET AL)  5 November 1996  see abstract</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1,7,18
A	<p>EP 0 478 366 A (GEN HOSPITAL CORP)  1 April 1992  see the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1,5,7, 12,18
A	<p>EP 0 355 068 A (GEN HOSPITAL CORP)  21 February 1990  see the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1,5,7, 12,18
A	<p>WO 96 04304 A (UNIV NEW YORK)  15 February 1996  see abstract  see page 7, line 34 - page 10, line 32</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1,18
A	<p>EP 0 225 867 A (KANEKAFUCHI CHEMICAL IND)  16 June 1987  see the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1,6, 8-11, 14-17
A	<p>DATABASE WPI  Week 8742  Derwent Publications Ltd., London, GB;  AN 87-294830  XP002092370  &amp; JP 62 205784 A (SNOW BRAND MILK PROD CO  LTD &amp; YEDA RES DEV CO LTD)  , 10 September 1987  see abstract</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1,18
A	<p>K Y HUI ET AL: "Monoclonal Antibodies to  a Synthetic Fibrin-Like Peptide Bind to  Human Fibrin but Not Fibrinogen"  SCIENCE,  vol. 222, September 1983, pages 1129-1132,  XP002080953  see the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1,7

-/--

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In: tional Application No

PCT/EP 98/04090

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>FERLIN G ET AL: "A NEW MONOCLONAL ANTIBODY ANTIFIBRIN: PRELIMINARY EVALUATION IN THE DETECTION OF VENOUS THROMBOSIS"</p> <p>INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION APPLICATIONS AND INSTRUMENTATION PART B: NUCLEAR MEDICINE AND BIOLOGY, vol. 16, no. 2, 1989, pages 163-165, XP000008197</p> <p>see the whole document</p> <p style="text-align: center;">----</p>	1,7
A	<p>B KUDRYK ET AL: "Specificity of a Monoclonal Antibody for the NH2-terminal Region of Fibrin"</p> <p>MOLECULAR IMMUNOLOGY, vol. 21, no. 1, 1984, pages 89-94, XP002081107</p> <p>see the whole document</p> <p style="text-align: center;">----</p>	1,7
A	<p>GARGAN P E ET AL: "A MONOCLONAL ANTIBODY WHICH RECOGNISES AN EPITOPIC REGION UNIQUE TO THE INTACT FIBRIN POLYMERIC STRUCTURE"</p> <p>FIBRINOLYSIS, vol. 7, no. 4, July 1993, pages 275-283, XP002059009</p> <p>see the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1,7

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/04090

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9531727 A	23-11-1995	AU 691297 B AU 2594495 A CA 2190268 A EP 0804734 A JP 9508976 T US 5817528 A	14-05-1998 05-12-1995 23-11-1995 05-11-1997 09-09-1997 06-10-1998
EP 0714982 A	05-06-1996	DE 4442665 A CA 2163925 A FI 955755 A JP 8231595 A ZA 9510154 A	05-06-1996 31-05-1996 31-05-1996 10-09-1996 06-05-1996
EP 0396188 A	07-11-1990	NL 8901102 A AT 108833 T DE 69010750 D DE 69010750 T DK 396188 T ES 2060927 T JP 2634683 B JP 3048159 A US 5124439 A	03-12-1990 15-08-1994 25-08-1994 22-12-1994 22-08-1994 01-12-1994 30-07-1997 01-03-1991 23-06-1992
US 5571708 A	05-11-1996	NONE	
EP 0478366 A	01-04-1992	CA 2052283 A JP 5199888 A US 5811265 A US 5609869 A	28-03-1992 10-08-1993 22-09-1998 11-03-1997
EP 0355068 A	21-02-1990	CA 1339546 A WO 9002338 A US 5811265 A US 5609869 A	18-11-1997 08-03-1990 22-09-1998 11-03-1997
WO 9604304 A	15-02-1996	US 5792742 A AU 3274995 A	11-08-1998 04-03-1996
EP 0225867 A	16-06-1987	JP 1675623 C JP 3039736 B JP 59156431 A JP 59193135 A JP 1536999 C JP 59196738 A JP 63019214 B JP 4071551 B JP 60077769 A JP 1557432 C JP 59102436 A JP 62056782 B AU 598643 B AU 1262188 A AU 571855 B AU 2183283 A CA 1221307 A DE 3382723 D DE 3382723 T EP 0110409 A	26-06-1992 14-06-1991 05-09-1984 01-11-1984 21-12-1989 08-11-1984 21-04-1988 16-11-1992 02-05-1985 16-05-1990 13-06-1984 27-11-1987 28-06-1990 02-06-1988 28-04-1988 07-06-1984 05-05-1987 13-01-1994 24-03-1994 13-06-1984

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/04090

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0225867 A		EP 0464872 A	08-01-1992
		US 4576928 A	18-03-1986
		US 4637994 A	20-01-1987
		ZA 8308908 A	25-07-1984
<hr/>			

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 C07K16/18 C07K14/745 C07K14/75 A61L33/00 A61M27/00  
A61K39/395

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 95 31727 A (BAXTER INT) 23. November 1995 in der Anmeldung erwähnt siehe Zusammenfassung siehe Seite 1, Zeile 10 - Seite 6, Zeile 35 siehe Seite 8, Zeile 15 - Seite 10, Zeile 20 ---	1-4, 6-11, 14-18
Y	EP 0 714 982 A (GRUENENTHAL GMBH) 5. Juni 1996  siehe das ganze Dokument insbesondere SEQ.ID.N.15 ---	1-4,6, 8-11, 14-17
Y	EP 0 396 188 A (TNO) 7. November 1990 siehe das ganze Dokument ---  -/--	1,7,18



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

5. Februar 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

19/02/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mateo Rosell, A.M.

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>DATABASE WPI  Week 9705  Derwent Publications Ltd., London, GB;  AN 97-048322  XP002092369  &amp; JP 08 301900 A (SHIMA KENKYUSHO KK)  , 19. November 1996  siehe Zusammenfassung  ---</p>	1,7,18
A	<p>US 5 571 708 A (YANG WEN-PIN ET AL)  5. November 1996  siehe Zusammenfassung  ---</p>	1,7,18
A	<p>EP 0 478 366 A (GEN HOSPITAL CORP)  1. April 1992  siehe das ganze Dokument  ---</p>	1,5,7, 12,18
A	<p>EP 0 355 068 A (GEN HOSPITAL CORP)  21. Februar 1990  siehe das ganze Dokument  ---</p>	1,5,7, 12,18
A	<p>WO 96 04304 A (UNIV NEW YORK)  15. Februar 1996  siehe Zusammenfassung  siehe Seite 7, Zeile 34 - Seite 10, Zeile 32  ---</p>	1,18
A	<p>EP 0 225 867 A (KANEGAFUCHI CHEMICAL IND)  16. Juni 1987    siehe das ganze Dokument  ---</p>	1,6, 8-11, 14-17
A	<p>DATABASE WPI  Week 8742  Derwent Publications Ltd., London, GB;  AN 87-294830  XP002092370  &amp; JP 62 205784 A (SNOW BRAND MILK PROD CO LTD &amp; YEDA RES DEV CO LTD)  , 10. September 1987  siehe Zusammenfassung  ---</p>	1,18
A	<p>K Y HUI ET AL: "Monoclonal Antibodies to a Synthetic Fibrin-Like Peptide Bind to Human Fibrin but Not Fibrinogen"  SCIENCE,  Bd. 222, September 1983, Seiten 1129-1132,  XP002080953  siehe das ganze Dokument  ---</p>	1,7

-/--



## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>2</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>FERLIN G ET AL: "A NEW MONOCLONAL ANTIBODY ANTIFIBRIN: PRELIMINARY EVALUATION IN THE DETECTION OF VENOUS THROMBOSIS"</p> <p>INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION APPLICATIONS AND INSTRUMENTATION PART B: NUCLEAR MEDICINE AND BIOLOGY, Bd. 16, Nr. 2, 1989, Seiten 163-165, XP000008197</p> <p>siehe das ganze Dokument</p> <p>---</p>	1,7
A	<p>B KUDRYK ET AL: "Specificity of a Monoclonal Antibody for the NH2-terminal Region of Fibrin"</p> <p>MOLECULAR IMMUNOLOGY, Bd. 21, Nr. 1, 1984, Seiten 89-94, XP002081107</p> <p>siehe das ganze Dokument</p> <p>---</p>	1,7
A	<p>GARGAN P E ET AL: "A MONOCLONAL ANTIBODY WHICH RECOGNISES AN EPITOPIC REGION UNIQUE TO THE INTACT FIBRIN POLYMERIC STRUCTURE" FIBRINOLYSIS, Bd. 7, Nr. 4, Juli 1993, Seiten 275-283, XP002059009</p> <p>siehe das ganze Dokument</p> <p>-----</p>	1,7

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/04090

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9531727 A	23-11-1995	AU 691297 B AU 2594495 A CA 2190268 A EP 0804734 A JP 9508976 T US 5817528 A	14-05-1998 05-12-1995 23-11-1995 05-11-1997 09-09-1997 06-10-1998
EP 0714982 A	05-06-1996	DE 4442665 A CA 2163925 A FI 955755 A JP 8231595 A ZA 9510154 A	05-06-1996 31-05-1996 31-05-1996 10-09-1996 06-05-1996
EP 0396188 A	07-11-1990	NL 8901102 A AT 108833 T DE 69010750 D DE 69010750 T DK 396188 T ES 2060927 T JP 2634683 B JP 3048159 A US 5124439 A	03-12-1990 15-08-1994 25-08-1994 22-12-1994 22-08-1994 01-12-1994 30-07-1997 01-03-1991 23-06-1992
US 5571708 A	05-11-1996	KEINE	
EP 0478366 A	01-04-1992	CA 2052283 A JP 5199888 A US 5811265 A US 5609869 A	28-03-1992 10-08-1993 22-09-1998 11-03-1997
EP 0355068 A	21-02-1990	CA 1339546 A WO 9002338 A US 5811265 A US 5609869 A	18-11-1997 08-03-1990 22-09-1998 11-03-1997
WO 9604304 A	15-02-1996	US 5792742 A AU 3274995 A	11-08-1998 04-03-1996
EP 0225867 A	16-06-1987	JP 1675623 C JP 3039736 B JP 59156431 A JP 59193135 A JP 1536999 C JP 59196738 A JP 63019214 B JP 4071551 B JP 60077769 A JP 1557432 C JP 59102436 A JP 62056782 B AU 598643 B AU 1262188 A AU 571855 B AU 2183283 A CA 1221307 A DE 3382723 D DE 3382723 T EP 0110409 A	26-06-1992 14-06-1991 05-09-1984 01-11-1984 21-12-1989 08-11-1984 21-04-1988 16-11-1992 02-05-1985 16-05-1990 13-06-1984 27-11-1987 28-06-1990 02-06-1988 28-04-1988 07-06-1984 05-05-1987 13-01-1994 24-03-1994 13-06-1984

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/04090

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0225867 A		EP 0464872 A	08-01-1992
		US 4576928 A	18-03-1986
		US 4637994 A	20-01-1987
		ZA 8308908 A	25-07-1984
<hr/>			